

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学 号: 200233009

UDC_____

厦 门 大 学
硕 士 学 位 论 文

银在细菌 SH09 上的吸附还原特性与表征

Biosorption and Bioreduction of Silver by Bacterium

SH09 and their Characterization

国家自然科学基金 (20376076) 资助项目

张昊然

指导教师姓名: 李清彪 教授

专业名称: 化 学 工 程

论文提交日期: 2 0 0 5 年 5 月

论文答辩日期: 2 0 0 5 年 6 月

学位授予日期: 2 0 0 5 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2005 年 5 月

厦门大学学位论文原创性声明

兹呈交的学位论文,是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果,均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文而产生的权利和责任。

声明人(签名):

年 月 日

摘 要

微生物对于金属离子的生物吸附和生物还原作用因其在环境保护和金属回收方面的潜在应用价值而一直受到人们的关注。本文主要研究了细菌SH09对一价银离子和银氨离子的吸附还原特性,并基于这一过程的生物还原机理制备出了纳米级的单质银颗粒。

SH09菌种是从福建上杭金属矿区废水排出口附近的土壤分离得到的一株微生物,初步鉴定其属于棒状杆菌。以SH09的干菌体和活菌体为研究对象,本文探讨了二者在不同条件下对一价银离子 Ag^+ 和银氨离子 $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ 的吸附特性。结果表明,吸附液 $\text{pH}=2$ 和 5 的条件下,SH09干菌体对 Ag^+ 的吸附是一个快速的过程,其最大吸附量分别约为 260 和 $230\text{ mg(Ag)}/\text{g(干菌体)}$ 。当 $\text{pH}=8$ 时, $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ 在SH09干菌体上吸附过程相对缓慢,但其最大吸附量优于 Ag^+ ,约为 $350\text{ mg(Ag)}/\text{g(干菌体)}$ 。相对干菌体,SH09活菌体对 $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ 的吸附能力较低,其最大吸附量为 $170\text{ mg(Ag)}/\text{g(干菌体)}$ 。吸附前后SH09干菌体和活菌体的细胞形貌没有发生变化。

SH09干菌体和活菌体在 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 下与 $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ 混合反应一段时间后,混合液的紫外可见光吸收光谱出现了单质银的特征表面等离子体共振吸收峰。定量分析显示 $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ 在一定时间内全部被还原为银单质。透射电镜观察发现,与 $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ 混合一段时间后,SH09细胞表面形成许多纳米级黑色颗粒。X射线衍射实验进一步证明这些颗粒是单质银晶体。根据傅立叶变换红外光谱分析结果,SH09细胞中的有机酰胺和羧基等基团参与了生物吸附和生物还原的过程。基于这些实验结果,本文提出了细菌SH09吸附还原 $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ 过程的机理。此外,本文还对生物还原制得的纳米银颗粒在不同温度下的结晶特性进行了研究,并在一定条件下制备出了树枝状和麦穗状的单质银晶体。

关键词: 生物吸附; 生物还原; 纳米银

Abstract

Biosorption and bioreduction of metal by microorganisms has received much attention due to its potential applications in the field of environment protection and metal recovery. In this study, the characteristic of biosorption and bioreduction of silver ion and diamine silver complex by bacterium SH09 was explored. Silver nanoparticles were further prepared based on the mechanism of bioreduction involved in the process.

Strain SH09 was isolated from the soil around sewage outfall of Shanghang metal mine, Fujian, China. It was identified as *Corynebacterium*. Taking SH09 dried biomass and living cells as targets, this study analyzed the biosorption characteristic of Ag^+ and $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ under different conditions. The result showed that the adsorption of Ag^+ was a rapid process when $\text{pH}=2$ and 5 . The maximum uptake of Ag^+ was around 260 and $230 \text{ mg}(\text{Ag})/\text{g}(\text{biomass})$, respectively. The adsorption of $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ at $\text{pH}=8$ was relatively slow but the maximum uptake was $350 \text{ mg}(\text{Ag})/\text{g}(\text{biomass})$, higher than the uptake of Ag^+ . Compared with dried biomass, living cells of SH09 strain was less capable of adsorbing $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$. The maximum uptake in this case was $170 \text{ mg}(\text{Ag})/\text{g}(\text{biomass})$. After adsorption of either ion, no surface morphology change of the dried biomass or living cells of SH09 was observed.

After mixed with $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ under 60°C for a period of time, the dried biomass and living cells of SH09 was found to arouse the characteristic surface plasmon absorption peak of silver particles in UV-vis adsorption spectra. Quantitative assay demonstrated that

$[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ was all reduced to elemental Ag^0 after a certain period of time. TEM observation further showed that many black nanoparticles were formed on the surface of SH09 cells after bioreduction. XRD assay confirmed that these particles were Ag^0 crystals. The analysis of FTIR spectra showed that some organic groups, such as amide and carboxyl were involved in the process of biosorption and bioreduction of $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$. Based on the experimental results above, the possible mechanism of $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ biosorption and bioreduction by bacterium SH09 was put forwards. Furthermore, the crystallization of silver nanoparticles prepared by bioreduction was studied under different temperatures. The dendrite and wheat-ear crystals of silver were formed under certain conditions.

Key words: biosorption, bioreduction, silver nanoparticles

目 录

第一章 文献综述	1
1.1 生物富集、生物吸附和生物还原技术	1
1.1.1 金属离子的生物富集	1
1.1.2 金属离子的生物吸附	2
1.1.2.1 生物吸附材料	2
1.1.2.2 生物吸附的机理	4
1.1.3 金属离子的生物还原	6
1.1.3.1 生物还原材料	7
1.1.3.2 生物还原的机理	7
1.2 纳米银性质、应用及制备方法	12
1.2.1 银的物理化学性质	12
1.2.2 纳米银的性质及其应用	12
1.2.3 纳米银制备的物理化学方法	14
1.2.3.1 物理方法	14
1.2.3.1 化学方法	15
1.3 研究目的、意义及内容	20
第二章 细菌 SH09 生物学特性研究及其菌种鉴定	22
2.1 引言	22
2.2 实验材料与方法	22
2.2.1 实验材料	22
2.2.2 实验方法	22
2.3 结果与讨论	23

第三章 细菌 SH09 对一价银离子和银氨离子的吸附特性..... 27

3.1 引言 27

3.2 实验材料与方法 28

3.2.1 实验材料..... 28

3.2.2 主要实验仪器..... 28

3.2.3 实验方法..... 29

3.3 结果与讨论 33

3.3.1 SH09 对 Ag^+ 和 $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ 的吸附特性..... 33

3.3.1.1 干菌体的吸附特性..... 33

3.3.1.2 活菌体的吸附特性..... 40

3.3.2 吸附前后细胞形态的观察..... 44

3.3.3 红外光谱分析..... 45

3.3.3.1 干菌体吸附的红外光谱分析..... 47

3.3.3.2 活菌体吸附的红外光谱分析..... 50

3.4 本章小结 51

第四章 细菌 SH09 对一价银离子和银氨离子的还原特性 53

4.1 引言 53

4.2 实验材料与方法 54

4.2.1 实验材料..... 54

4.2.2 主要实验仪器..... 54

4.2.3 实验方法..... 54

4.3 结果与讨论 57

4.3.1 紫外可见光谱分析..... 57

4.3.1.1 干菌体生物还原的紫外可见光谱分析..... 57

4.3.1.2 活菌体生物还原的紫外可见光谱分析.....	61
4.3.2 X 射线衍射分析.....	62
4.3.3 透射电镜观察.....	67
4.3.3.1 生物还原后干菌体的电镜观察.....	67
4.3.3.2 生物还原后活菌体的电镜观察.....	71
4.3.4 红外光谱分析.....	72
4.3.5 生物还原过程的机理.....	74
4.3.6 生物还原过程的热力学分析.....	75
4.3.7 生物还原制得的纳米银颗粒的结晶研究.....	76
4.4 本章小节	81
第五章 结论与建议	82
参考文献	84
附录	95
在学期间所发表论文	106
致谢	107

Contents

Chapter 1 Introduction	1
1.1 BIOACCUMULATION, BIOSORPTION AND BIOREDUCTION TECHNOLOGY	1
1.1.1 Bioaccumulation of Metal Ion	1
1.1.2 Biosorption of Metal Ion.....	2
1.1.2.1 Biosorption Materials.....	2
1.1.2.2 Mechanisms of Biosorption	4
1.1.3 Bioreduction of Metal Ion.....	6
1.1.3.1 Bioreduction Materials.....	7
1.1.3.2 Mechanisms of Bioreduction	7
1.2 PROPERTIES, APPLICATION AND PREPARATION OF SILVER NANOPARTICLE	12
1.2.1 Physical and Chemical Properties of Silver	12
1.2.2 Properties and Application of Silver Nanoparticle.....	12
1.2.3 Physical and Chemical Method of Silver Nanoparticle Preparation.....	14
1.2.3.1 Physical Method.....	14
1.2.3.2 Chemical Method.....	15
1.3 AIM, SIGNIFICANCE AND CONTENT	20
 Chapter 2 Microbiological Characteristic and Identification of Bacterial SH09	 22
2.1 INTRODUCTION	22
2.2 MATERIALS AND METHODS	22
2.2.1 Materials.....	22

2.2.2 Methods.....	22
2.3 RESULTS AND DISCUSSION	23

Chaper 3 Adsorption of Silver Ion and Diamine Silver Complex by SH09	27
---	-----------

3.1 INTRODUCTION	27
3.2 MATERIALS AND METHODS	28
3.2.1 Materials.....	28
3.2.2 Experimental Equipments	28
3.2.3 Methods.....	29
3.3 RESULTS AND DISCUSSION	33
3.3.1 Adsorption of Ag^+ and $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ by SH09	33
3.3.3.1 Adsorption by Dried Biomass	33
3.3.3.2 Adsorption by Living Cells.....	40
3.3.2 Observation of Cell Morphology	44
3.3.3 FTIR analysis	45
3.3.3.1 Dried Biomass Biosorption.....	47
3.3.3.2 Living Cells Biosorption.....	50
3.4 CONCLUSIONS	51

Chapter 4 Bioreduction Silver Ion and Diamine Silver Complex by SH09	53
---	-----------

4.1 INTRODUCITON	53
4.2 MATERIALS AND METHODS	54

4.2.1 Materials.....	54
4.2.2 Experimental Equipments	54
4.2.3 Methods.....	54
4.3 RESULTS AND DISCUSSION	57
4.3.1 UV-vis spectra analysis	57
4.3.1.1 UV-vis spectra of Dried Biomass.....	57
4.3.1.2 UV-vis spectra of Living Cells.....	61
4.3.2 XRD Analysis.....	62
4.3.3 TEM Observation.....	67
4.3.3.1 Dried Biomass TEM Observation after Bioreduction.....	67
4.3.3.2 Living Cells TEM Observation after Bioreduction.....	71
4.3.4 FTIR Analysis	72
4.3.5 Mechanism of Bioreduction.....	74
4.3.6 Thermodynamic of Bioreduction	75
4.3.7 Crystallization of Silver Nanoparticle Prepared by Bioreduction.....	76
4.4 Conclusions	81
 Chapter 5 Conclusions and Suggestions	 82
 References.....	 84
 Appendix	 95
 Publications During Graduate Study	 106
 Acknowledgement	 107

第一章 文献综述

1.1 生物富集、生物吸附和生物还原技术

随着现代生物技术发展的突飞猛进,对生物体各种理化性质的研究已日渐成熟,生物技术已被应用于许多工业领域。近年来,人们逐渐发现生物质对溶液中的金属离子有着特殊的物理化学作用。基于这一认识,许多学者开始研究如何利用生物质去除水溶液中的金属离子,这方面的研究工作已成为环境生物技术的一个研究热点。

根据已有的研究成果,生物质对金属离子的作用可以依据其是否依赖细胞的代谢而分为代谢依赖的生物富集作用和非代谢依赖的生物吸附作用两大类。

1.1.1 金属离子的生物富集

生物富集又叫生物浓缩或生物积累,是指生物体从周围环境中蓄积某种金属离子,从而使生物体中该物质浓度超过环境浓度的现象,富集的程度可以用富集系数即生物体中某种富集物浓度与环境中该物质的浓度之比来表示^[1]。

生物富集主要与生物体的代谢作用有关。它主要包括两个阶段。第一个阶段是金属离子在细胞表面上的附着,即胞外多聚物、细胞壁上的有机官能团等与金属离子的结合。其特点是快速、可逆、不依赖于能量代谢,因此又称为被动吸附。第二阶段是细胞表面吸附的金属离子与细胞表面的某些酶或生物活性物质结合,并被转移到细胞内。其特点是速度慢、不可逆,与细胞代谢有关,又称为主动吸收^[2]。非活性生物体主要依靠表面吸附,活性生物体既有表面吸附又有主动吸收。

金属离子向生物体内转移的过程有时伴随着价态和存在形式的变化。如某些对生物体有毒害作用的重金属离子在生物富集过程中往往被还原为无毒的低价态离子、形成无机盐沉淀或被络合固定在细胞内部某些酶上。

由于金属离子生物富集的过程涉及生物体的生命代谢活动,需要能量以

及某些特定的生物酶的参与，因此是一个极为复杂的过程。

1.1.2 金属离子的生物吸附

狭义的生物吸附指的是生物材料不依赖于代谢作用，通过静电吸附、离子交换、络合作用和氧化还原作用等方式固定金属或非金属物质的非活性表面吸附过程（biosorption）。广义的生物吸附除了指狭义生物吸附外还包括生物富集过程。本文所采用的生物吸附概念指的是狭义的生物吸附。

金属离子生物吸附的概念最早是由 Ruchhoft 在 1949 年提出，他利用活性污泥去除水中放射性元素钚-239^[3]。此后，由于对生物材料吸附溶液中金属离子，特别是重金属离子的研究日渐深入，生物吸附受到了人们的广泛关注。与传统重金属处理方法（化学沉淀法、电解法、离子交换法、膜分离法和活性炭吸附法）相比，生物吸附法具有很多优点。如在低浓度下，可以选择性去除某种重金属离子；处理效率高；pH 值和温度范围宽（pH 3~9，温度 4~90℃）；易于分离回收重金属；吸附剂易再生等。这使得生物吸附技术在处理重金属污染和回收重金属方面有广阔的应用前景。

1.1.2.1 生物吸附材料

按材料来源不同分，生物吸附材料可以分为动物、植物和微生物三种。

(1) 动物

Ishikawa 等人很早就开始了利用蛋壳膜、鸡毛、羊毛、以及蚕丝等动物纤维蛋白吸附 Au 离子的研究^[4]。随后，Al-Asheh 等人利用废弃的动物骨头做成填充床反应器吸附水溶液中的 Cu^{2+} 离子也获得了成功^[5]。但至今为止，以动物的组织器官作为生物材料吸附金属离子的研究还比较少。

(2) 植物

植物中含有大量的纤维素、木质酚、糖类和醛、酮、醇、酯等有机化合物，这些化合物中的官能团都可以通过与金属离子的络合作用将其从水溶液中去除。因而植物是一种优良的金属离子生物吸附材料。

例如，苜蓿已被证实具有很强的生物吸附能力，能够有效固定溶液中的

Cu^{2+} 、 Cr^{3+} 、 Pb^{3+} 、 Zn^{2+} 、 Ni^{2+} 和 Ca^{2+} 等离子^[6,7]，用苜蓿做成的吸附材料还能大量吸附 Ag^{+} ^[8,9]。

此外，许多其它植物也能作为生物吸附材料。如预处理过的落叶松树皮能够大量吸附溶液中的 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Zn^{2+} 离子^[10]，空心莲子草对 Co^{2+} 具有较强的吸附作用等^[11]。

(3) 微生物

目前，国内外对微生物生物吸附金属离子的文献报道较多。现有的研究表明，各种微生物，包括原核微生物、真核微生物和一些低等藻类都具有吸附固定水溶液中金属离子的能力。

① 原核生物

原核生物因其结构简单，价廉易得，一直是生物吸附研究领域所广泛采用的吸附材料，对其吸附性能的报道也最多，如巨大芽孢杆菌对 Au^{3+} 和 Pd^{2+} 的吸附^[12,13]，地衣芽孢杆菌对 Pd^{2+} 的吸附^[14]，枯草芽孢杆菌对金离子的吸附^[15]，铜绿假单胞菌对镧系金属的吸附^[16,17]。本课题组也进行了大量这方面的工作，现已研究了许多不同微生物对重金属离子的吸附过程，如黄孢展齿革菌吸附 Cd^{2+} ^[18]、 Pb^{2+} ^[19,20]，白腐真菌吸附 Pb^{2+} ^[21,22]，基因工程菌大肠杆菌 JM109 吸附 Hg^{+} ^[23]、 Ni^{2+} ^[24]，基因工程菌大肠杆菌 SE5000 吸附 Ni^{2+} ^[25]等。

② 真核生物

Yin 等发现无根霉菌等真菌具有去除水溶液中 Pd^{2+} 的能力^[26]。某些轮枝链霉菌和产黄青霉菌也被证实能够吸附溶液中的 Pb^{2+} 离子^[27]。

③ 藻类

现已发现颤藻能够强烈的吸附溶液中的 Zn^{2+} ，其最大吸附量高达 641 mg/g 干重^[28]。褐、绿、红藻也都对 Cd^{2+} 具有很强的吸附能力^[29]，褐藻还能够一定条件下吸附 Zn^{2+} ^[30]。

(4) 微生物对银的吸附

各种微生物对银离子的吸附是生物吸附重金属研究领域的一个重要组成

部分, 其研究结果也屡见报道。原核生物对银离子的吸附作用研究最多。如傅锦坤等成功地利用巨大芽孢杆菌 D01 吸附去除溶液中的 Ag^+ ^[31]。Simmons 等用啤酒酵母吸附 Ag^+ , 通过加入 L-半胱氨酸的方法使最大银吸附量达到 $0.556 \text{ mmol Ag}^+/\text{g}$ 干菌体^[32]。本课题组也已发现气单胞菌 SH10 具有强吸附溶液中 Ag^+ 的能力^[33]。

真核生物对银离子的吸附作用也已被发现。如 Pethkar 等发现两株枝孢霉菌的菌丝体和细胞壁能够吸附溶液中的金离子和银离子^[34], 并进一步应用枝孢霉菌对 Ag^+ 的吸附能力处理胶卷冲印业废水。他们先加入硫化菌降解废液中的硫代硫酸盐, 再通过枝孢霉菌对银离子进行吸附^[35]。

一些藻类, 如斜生栅藻和汉氏菱形藻也能吸附溶液中的 Ag^+ 离子, 其生物吸附量分别达到 15 和 27 mg Ag/g 生物质^[36]。本课题组研究了马尾藻对 Ag^+ 的吸附固定作用, 并优化了吸附条件^[37]。

1.1.2.2 生物吸附的机理

生物吸附是一种复杂的过程。一般认为生物体具有的吸附能力是与其细胞表面的结构、成分密切相关的。如细胞表面有机官能团与金属离子的静电吸附作用, 以及离子交换作用都和这些因素密切相关。另外, 生物体细胞壁表面的一些具有络合、配位能力的基团在生物吸附过程中也起重要作用, 这些基团通过与所吸附的金属离子形成离子键或共价键将金属离子固定在细胞表面。现有的研究表明, 生物吸附剂表面具有金属吸附能力的功能基团有: 羧基、磷酸基、巯基、氨基、硫酸基、咪唑基、硫醚、酚基、氨基、以及肽和蛋白质上的羟基、细胞壁上的多聚糖等^[38]。在一定条件下, 某些生物体细胞表面的官能团还能与溶液中的金属离子发生反应, 使其直接形成无机沉淀或变为低价态物质沉积在细胞表面。

生物吸附过程是以何种方式进行取决于以下三个因素。

①生物体本身特性。特别是对某种金属元素具有特殊作用的生物类型将影响对目标金属的吸附机制。

②目的金属离子的物理化学性质。

③生物所处溶液的环境, 比如 pH 的梯度, 溶液组成和基质的浓度等^[39]。

到目前为止, 生物吸附的机理尚无定论。一些研究表明, 其主要包括静电、离子交换、络合作用、无机微沉淀作用和氧化还原等作用。需要指出的是, 在一个生物吸附的过程中, 可能几种机理同时在起作用。而且同一生物质吸附不同金属时, 机理也可能不一样。

(1) 静电吸附作用

静电吸附是一种物理吸附过程, 生物体通过细胞表面的一些带电基团对金属离子的静电引力将其固定在细胞表面。许多研究表明静电吸附作用是一种重要的生物吸附的机理。如漂浮马尾藻吸附金是其细胞表面所带的正电荷与带负电荷的金离子基团之间的静电作用的结果^[40]。

(2) 离子交换作用

离子交换是一种重要的生物吸附机理。生物体细胞表面富含多糖、蛋白质和脂类等有机物质, 这些有机物中的羧基、羟基和巯基等基团上的 H^+ 和其他盐类化合物的金属阳离子能够与溶液中待吸附的金属离子进行离子交换作用, 从而将其固定在生物体的有机官能团上。如苔类海藻对 Na^+ 、 K^+ 和 Mg^+ 的吸附过程强烈依赖于其细胞中 H^+ 与这些离子的交换作用^[41]。Lo 等发现某些丝状真菌可以通过其细胞表面的 K^+ 、 Ca^+ 的离子交换作用将溶液中的 Pb^{2+} 吸附在细胞上^[42]。

(3) 络合作用

生物体细胞表面所含有的羧基、羟基和巯基等基团除了能提供 H^+ 进行离子交换吸附外, 还能通过其中的 N、O、P、S 等原子提供孤对电子, 与金属离子形成络合物或螯合物, 使其附着在细胞表面。生物体细胞表面的形貌和起络合作用的有机官能团含量及其分布决定了生物吸附量的高低。如黑根霉菌细胞表面的氨基与亚氨基参与了对溶液中 $Cr(VI)$ 离子的络合吸附过程^[43]。

一些微生物还能分泌具有特殊活性的铁配位络合物, 并通过络合作用将

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库